

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP MỚI CHUYỂN GEN VÀO VI NẤM BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÁN TIẾP NHỜ *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS*

Mã số đề tài: 640102

Tên Chủ nhiệm đề tài: **TS. HOÀNG QUỐC KHÁNH**

Cơ quan công tác: Viện Sinh học nhiệt đới

Địa chỉ liên lạc: 1 Mạc Đĩnh Chi, Q. 1

Điện thoại: 0913 733 410

Email: hoang-quoc-khanh@hcm.vnn.vn

Thành viên tham gia: CN Trần Hoàng Ngọc Ai

1. Tóm tắt mục đích, nội dung nghiên cứu

Agrobacterium tumefaciens được sử dụng rộng rãi để biến nạp di truyền thực vật. Hiện nay phương pháp này áp dụng cho các đối tượng khác như tế bào động vật, vi nấm, các loại nấm lớn. Biến nạp di truyền nhờ *A.tumefaciens* có nhiều lợi điểm so với các phương pháp biến nạp khác như tính chọn lọc, đơn giản và hiệu suất cao. Mục tiêu của đề tài là xây dựng phương pháp hoàn chỉnh biến nạp vi nấm nhờ *A.tumefaciens*. Thử nghiệm biến nạp trên một số loại nấm như *Trichoderma*, *Phytophthora*, *Volvariella*.

2. Kết quả nghiên cứu của đề tài về mặt khoa học

- Hoàn thiện quy trình biến nạp *Trichoderma harzianum*: biến nạp plasmid pPK2 có mang gen kháng hygromycin vào *A.tumefaciens*, biến nạp *T.harzianum* gián tiếp nhờ *A.tumefaciens*, theo dõi độ ổn định của các dòng biến nạp và kiểm tra sự hiện diện của gen *hph* (kháng hygromycin) bằng PCR.

- Hoàn thiện quy trình biến nạp nấm gây bệnh cây *Phytophthora palmivora*: quan sát gắn kết của *A.tumefaciens* lên bề mặt tơ nấm *P.palmivora*, biến nạp *P.palmivora* gián tiếp nhờ *A.tumefaciens*, chọn ngưỡng kháng hygromycin thích hợp và theo dõi độ ổn định của các dòng biến nạp, kiểm tra sự hiện diện của gen *hph* bằng PCR.

- Hoàn thiện quy trình biến nạp nấm ăn *Volvariella volvacea*: phân lập và khảo sát các điều để nuôi cấy *V.volvacea* trong điều kiện *in vitro*, biến nạp *V.volvacea* gián tiếp nhờ *A.tumefaciens*, chọn ngưỡng kháng hygromycin thích hợp, theo dõi độ ổn định của các dòng biến nạp và kiểm tra sự hiện diện của chỉ thị bằng PCR.

3. Ý nghĩa thực tiễn và hiệu quả ứng dụng thực tiễn

Đây là phương pháp mới, hữu hiệu dùng để chuyển gen vào vi nấm một cách có chọn lọc và hiệu suất cao.

4. Kết quả đào tạo sau đại học

Thạc sỹ: 0

Tiến sỹ: 0

5. Sản phẩm khoa học đã hoàn thành

5.1. Các báo cáo khoa học tại các hội nghị, hội thảo KH

- [1]. Hoàng Quốc Khánh, Trần Hoàng Ngọc Ai. Chuyển gen kháng hygromycin B vào vi nấm *Trichoderma harzianum* bằng phương pháp gián tiếp nhờ *Agrobacterium tumefaciens*. Hội nghị toàn quốc lần thứ II Nghiên cứu cơ bản trong Sinh học, Nông nghiệp, Y học, Huế, 25-27/7/2003.
- [2]. Trần Hoàng Ngọc Ai, Hoàng Quốc Khánh. Biến nạp di truyền gián tiếp nhờ *Agrobacterium tumefaciens* vào nấm bệnh cây *Phytophthora palmivora*. Hội nghị Khoa học lần thứ IV Đại học Khoa học tự nhiên TP HCM, TP Hồ Chí Minh, 21/10/2004.
- [3]. Hoang Quoc Khanh, Tran Hoang Ngoc Ai. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of the phytopathogenic oomycete *Phytophthora palmivora*. XXII Fungal genetics Conference, Pacific Grove, USA, March 18-23, 2003.
- [4]. Hoang Quoc Khanh, Tran Hoang Ngoc Ai. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of the phytopathogenic oomycete *Phytophthora palmivora*. XIX International Congress of Genetics, Melbourne, Australia, July 6-11, 2003.
- [5]. Tran Hoang Ngoc Ai and Hoang Quoc Khanh. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of the edible straw mushroom *Vovaviella volvacea*. XXIII Fungal genetics Conference, Pacific Grove, USA, March 15-20, 2005.

6. Đánh giá và kiến nghị

Đề tài đã đạt được các mục tiêu đề ra, mặc dù gặp phải một số khó khăn về điều kiện làm việc. Tiếp tục hỗ trợ kinh phí.

***AGROBACTERIUM TUMEFACIENS*-MEDIATED GENETIC TRANSFORMATION OF FILAMENTOUS FUNGI**

ABSTRACT

Agrobacterium tumefaciens-mediated genetic transformation is utilized widely in transformation of plant. Nowadays, the method is applied for different cells such as animal cells, filamentous fungi and mushroom. The goal of this project is setting up a new method for transformation of filamentous fungi by using *A.tumefaciens* mediation. The method was tested in different kind of filamentous fungi such as *Trichoderma*, *Phytophthora* and *Volvariella*.